

Efeito da adição de argila nas propriedades de biofilme de quitosana Effect of clay addition on the properties of chitosan biofilm

Suliane Dantas do Nascimento¹, Thiago Azevedo de Oliveira², Francisco Klebson Gomes dos Santos³, Edna Maria Mendes Aroucha³, Ricardo Henrique de Lima Leite³

RESUMO: A aplicação de biofilmes como embalagem está diretamente relacionada com suas características e com as possíveis interações destes com o produto e o meio ambiente. Há evidências que a quitosana é uma alternativa viável para ser aplicada no recobrimento de frutos por suas características de antifúngicas, antibacterianas entre outras, e pela sua direta ação como barreira de vapores de água, que vem a tardar o envelhecimento do fruto. A argila, além de aumentar a permeabilidade ao vapor de água, possibilita uma maior aderência do biofilme na superfície do fruto. A determinação do grau de desacetilação (GD) da quitosana foi feita por titulação condutimétrica. Os biofilmes foram obtidos pela dissolução sob agitação moderada em ácido acético 0,5 M, com concentrações de quitosana de 1 e 2%. O método "casting" foi utilizado para formação dos biofilmes, onde se depositou 5 mL do gel de quitosana em placas plexiglas com 5,55 cm de diâmetro, e foram deixados à temperatura ambiente até que toda a água fosse totalmente evaporada. Foram realizados quatro diferentes tratamentos para analisar o efeito que a variação da concentração da quitosana e argila sobre a análise do estudo da coloração, opacidade, espessura, solubilidade e permeabilidade a vapor de água. A luminosidade (L^*) foi alterada com a adição de argila aos filmes de quitosana, que não diferiram estatisticamente em relação a coordenada a^* . O valor de b^* aumentou significativamente com o aumento da concentração de quitosana e com a adição de argila. A opacidade só foi afetada quando adicionou-se argila ao biofilme. As espessuras aumentaram com a maior quantidade de matéria depositada. E a adição de argila não ajudou na barreira ao vapor de água, como pode-se observar com o aumento dos valores de permeabilidade ao vapor de água.

Palavras-chave: Quitosana, Argila, Biofilme

ABSTRACT: The application of biofilms as packaging is directly related to their characteristics and the possible interactions of these with the product and the environment. There is evidence that chitosan is a viable alternative to be applied to the coating of fruits by their characteristics antifungal, antibacterial, among others, and its direct action as a barrier to water vapor, which is the latest in aging fruit. The clay, and increases the permeability to water vapor, enables a greater adhesion of the biofilm on the surface of the fruit. Determination of degree of deacetylation (DD) of chitosan was made by conductimetric titration. Biofilms were obtained by dissolving moderate agitation in 0.5 M acetic acid at concentrations of 1, and chitosan 2%. The method "casting" was used for the formation of biofilms, which was deposited in 5 mL chitosan gel in Plexiglas plates with 5.55 cm diameter, and were left at room temperature until all the water was completely evaporated. Four different treatments were performed to analyze the effect of the concentration of the chitosan and clay on the analysis of the staining study, opacity, thickness, solubility and permeability to water vapor. The lightness (L^*) was changed with the addition of clay to the chitosan films, which did not differ significantly with respect to a^* coordinate. The b^* value increased significantly with the increase in chitosan concentration and the addition of clay. The opacity was only affected when clay was added to the biofilm. The thicknesses increased with higher amounts of deposited material. And the addition of clay not helped barrier to water vapor, as can be seen with increasing values of permeability to water vapor.

INTRODUÇÃO

Hoje em dia há um crescente interesse em polímeros biodegradáveis provenientes de fontes renováveis, devido aos problemas ambientais causados por materiais convencionais de embalagens de alimentos, pois as embalagens plásticas desenvolvidas pela indústria são derivadas de petróleo e em curto prazo não são biodegradáveis (SORRENTINO et al., 2007).

Os filmes preparados com estes polímeros são geralmente baseados em polissacarídeos, proteínas e lipídios, que são geralmente biodegradáveis, não tóxicos, e alguns deles são eficazes para barreira de oxigênio e

dióxido de carbono, de forma que possam ser utilizados como revestimento protetor para manter a qualidade dos alimentos e, ao mesmo tempo, reduzir o impacto ambiental dos resíduos de embalagens (LECETA et al., 2013).

Além disso, há um crescente interesse no desenvolvimento de materiais com caráter antimicrobiano para evitar alterações nos alimentos causadas por contaminação de microrganismos e, neste contexto, a quitosana tem sido usada como um material importante na ciência e na indústria por suas propriedades únicas, uma vez que oferece vantagens potenciais como matéria prima para a produção de filmes coberturas e aplicações

*autor para correspondência

Recebido para publicação em 05/10/2012; aprovado em 10/03/2013

¹Aluna de de Graduação em Eng. Química da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró – RN, Brasil. sulienascimento@gmail.com

²Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró – RN, Brasil thiagoagrotec@hotmail.com

³Professores do Departamento de Agrotecnologia e Ciências Sociais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró – RN, Brasil. klebson@ufersa.edu.br, aroucha@ufersa.edu.br, ricardoleite@ufersa.edu.br

plásticas; além de ser biodegradável e renovável (TANADA-PALMU et al., 2002; RAO, et al., 2010; DUTTA et al., 2009).

A quitosana é o segundo polissacárido mais abundante na natureza e tem características não-tóxicas, biodegradáveis, antimicrobianas e impermeabilidade ao oxigênio, e devido a essas tais características são de grande interesse para fins de embalagem (LI et al., 2010; LECETA et al., 2013), tendo uma boa eficácia na preservação da qualidade microbiológica do alimento (DOTTO, et al., 2008). No entanto, a sua ampla aplicação está atualmente limitada, principalmente por causa do preço relativamente elevado em comparação aos plásticos, escurecimento (aparência de cor amarelada) durante o armazenamento a temperaturas elevadas, relativamente pobres em relação à barreira de vapor de água (BUTLER et al., 1996).

Geralmente os biopolímeros exibem pobres propriedades mecânicas e de barreiras, as quais necessitam ser aperfeiçoadas para que eles possam ser utilizados em diferentes aplicações. Polímeros produzidos com adição de nanopartículas exibem frequentemente propriedades superiores aos compósitos convencionais como maior resistência mecânica, melhor consistência, maior estabilidade térmica e oxidativa, melhores propriedades de barreiras a gases e água, assim como retardamento à chama (SOZER E KOKINI, 2009).

A argila bentonita é utilizada nesse estudo como material compósito do biofilme. A argila, obtida da região do Seridó – RN, a um baixo custo, também possibilitará uma maior aderência do biofilme na superfície do fruto (LAVORGNA et al., 2010). Essas propriedades melhoradas são geralmente alcançadas pelo espaço preenchido na matriz polimérica em comparação com os materiais convencionais. Em relação à biodegradabilidade, esses materiais também apresentam vantagens (PAVLIDOU E PAPASPYRIDES, 2008).

Quando utilizados em frutos pós-colheita o uso desses filmes promove alterações na fisiologia dos frutos e conseqüentemente podem interferir nos parâmetros de qualidade pós-colheita. Baseado no exposto, esse trabalho tem como objetivo produzir e analisar biofilmes, a baixas concentrações de quitosana e argila verificando sua interferência nas propriedades de espessura, opacidade, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, município de Mossoró/RN. A quitosana utilizada neste trabalho foi obtida comercialmente. Segundo formulário recebido, a quitosana é de alta densidade, apresenta aspecto de pó e coloração de amarelado a branco. Seu grau de desacetilação não foi informado.

A determinação do grau de desacetilação (GD) da quitosana foi feita por titulação condutimétrica, onde uma solução de quitosana diluída em ácido clorídrico é titulada com hidróxido de sódio. A solução para determinação do

grau de desacetilação foi feita pela dissolução de 0,2g de massa de quitosana em 40 mL de solução de HCl a 0,05M, que permaneceu sob agitação por 18 h, à temperatura ambiente. Após a adição de 50 mL de água, a titulação condutimétrica foi realizada com NaOH a 0,14M à temperatura de 29°C. As titulações foram feitas em triplicata e sem purificação prévia da quitosana (SANTOS et al., 2003; SANTOS et al., 2009).

A argila (bentonita) foi gentilmente fornecida pela ARMIL – Mineração do Nordeste, com granulometria de 200 mesh. Bentonita é uma terminologia tecnológica aplicada a argilas com granulação muito fina, compostas essencialmente por minerais do grupo das esmectitas, dentre essas a montmorilonita é a mais comum (PAIVA et al., 2008).

Os biofilmes foram obtidos pela dissolução sob agitação moderada em ácido acético 0,5 M até equilíbrio, com pH próximo a 3, para soluções com concentrações de quitosana de 1 e 2%, como descrito por Assis et al. (2002). Este pH foi adotado por ser teoricamente o de máxima solubilidade da quitosana. Períodos de até 24 horas de agitação foram necessários para obter uma total homogeneização da solução sob agitação. Para simplificar o processo, todo o procedimento foi realizado em temperatura ambiente de aproximadamente $29 \pm 0,1$ °C.

Para a formação do filme foi usado o método “casting” onde se depositou 5 mL do filmogênico em placas plexiglas com 5,55 cm de diâmetro, e foram deixados à temperatura ambiente até que toda a água fosse totalmente evaporada (temperatura em torno de $29 \pm 0,1$ °C e tempo de aproximadamente 48 h). Após a evaporação de toda a água presente no gel, o filme é formado e submetido a testes. Os filmes tiveram suas espessuras controladas pela fixação da quantidade de matéria-seca (quitosana + argila) presente em cada placa.

Foram realizados quatro diferentes tratamentos para analisar o efeito que a variação da concentração da quitosana e argila sobre a análise do estudo da espessura, opacidade, solubilidade e permeabilidade a vapor de água. Os filmes foram codificados com relação à concentração de quitosana presente na matriz, 1 e 2% (10 e 20 g/L), adicionando a argila da seguinte forma: Q1 - Filme com concentração de quitosana 1%, sem argila; Q2 - Filme com concentração de quitosana 2%, sem argila; Q1A - Filme com concentração de quitosana 1% e argila 1%; Q2A - Filme com concentração de quitosana 2% e argila 2%;

As cores dos biofilmes foram medidas por meio dos padrões CIE Lab: L*, variando de 0 (preto) a 100 (branco); a*, do verde (-) ao vermelho (+); e b*, do azul (-) ao amarelo (+) (GENNADIOS et al., 1996; KUNTE et al., 1997), determinados com um colorímetro Minolta CR 10 (HunterLab) trabalhando com D65 e luz do dia. Os biofilmes foram aplicados na superfície de uma placa branca padrão, e os padrões L*, a* e b* foram medidos e transferidos em tempo real, para um microcomputador.

A opacidade dos biofilmes foi determinada segundo método Hunterlab (HUNTER ASSOCIATES LABORATORY, 1997), utilizando-se o mesmo aparelho das medidas de cor. Por esse método, a opacidade (Y) da

amostra é calculada como a relação entre a opacidade da amostra colocada sobre o padrão preto (Y_p) e a opacidade da amostra colocada sobre o padrão branco (Y_b), segundo a Equação (1):

$$Y = (Y_p/Y_b) \cdot 100 \quad \text{Equação (1)}$$

A opacidade assim medida (entre 0 e 100%) apresenta escala arbitrária. A determinação das propriedades óticas foi realizada nos mesmos biofilmes utilizados para a determinação da permeabilidade ao vapor de água, considerando-se que esse teste é não-destrutivo.

A espessura foi determinada, antes da análise da permeabilidade a vapor de água, com auxílio de um micrômetro manual. As espessuras foram efetuadas em três pontos na área de transmissão de água com diâmetro de 14,2 mm. O resultado consistiu da média dos pontos avaliados, expressos em mm. Cada concentração de filme foi feita em triplicata.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos biofilmes em função da relação quitosana e argila foi determinada com base na norma E 96-80 da ASTM adaptado por Carvalho (1997). Os filmes foram fixados em células de permeabilidade contendo cloreto de cálcio, mantendo-se uma distância superior a 6,0 mm entre o filme e o dessecante. As células foram mantidas a 29 °C dentro de dessecadores contendo água destilada. O peso das células foi registrado em intervalos de 24 horas durante sete dias. A permeabilidade ao vapor de água foi calculada empregando-se a Equação (2), que é o produto da permeância pela espessura do filme:

$$PVA = \frac{m}{t} \cdot \frac{x}{A \cdot \Delta p} \quad \text{Equação (2)}$$

Onde, PVA: permeabilidade ao vapor de água (g.mm/d.m².kPa), x: espessura do filme (mm), t: tempo

no qual ocorre ganho de massa (dia), A: área exposta do filme de $1,60 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$ e Δp : diferença de pressão parcial de vapor de água, ambos a 29 °C de temperatura e 4,216 kPa de pressão.

A solubilidade em água dos filmes de quitosana foi feita conforme metodologia descrita por Casariego et al., (2009). Foram cortados dois círculos com 2 cm de diâmetro, secos em estufa a 105°C e posteriormente pesados em uma balança de precisão para determinação da sua massa inicial. Ambos foram colocados em 50 mL de água e deixados por 24h com agitação ocasional. Após as 24h de imersão a 20°C os filmes foram retirados e secos novamente a 105°C e foi determinada sua massa final. A medição da solubilidade dos filmes foi determinada de acordo com a seguinte Equação (3).

$$SOL = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad \text{Equação (3)}$$

Onde SOL é a porcentagem de material solubilizada, M_i a massa inicial e M_f a massa final dos filmes. Os dados coletados foram colocados em tabela para estudo de porcentagem de solubilidade.

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado. Os resultados obtidos durante o experimento foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), com o auxílio do software Sisvar, e aplicado o teste de Tukey ao nível de 5 % de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos, por titulação condutimétrica, fornecem o gráfico usado para a determinação do GD da quitosana utilizada, como mostra a Figura (1).

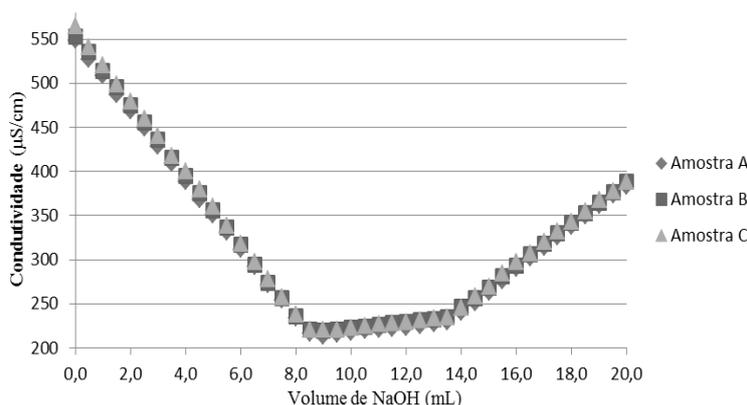


Figura 1. Gráfico de titulação condutimétrica da solução de quitosana para determinação do grau de desacetilação. Mossoró-RN, UFERSA, 2012.

Analisando a Figura (1), pode-se perceber que o primeiro ramo linear representa a neutralização do ácido presente, o segundo corresponde à neutralização de prótons dos grupos amino da quitosana e o terceiro conjunto de pontos refere-se ao excesso de base, após o ponto de equivalência. Estas três retas originam por extrapolação dois pontos de intersecção, que correspondem ao volume de base necessário para neutralizar os grupos amino protonados. O número de equivalentes de grupos ácidos foi calculado usando a

equação descrita por Santos et al., (2003). O resultado foi de um GD de aproximadamente 72%.

Houve diferença estatística para as variáveis espessura; permeabilidade ao vapor de água; opacidade e solubilidade. As coordenadas de cor L^* e b^* apresentam variação entre os filmes estudados, já a variável colorimétrica a^* não diferiu estatisticamente. Como pode-se ver na Tabela 1.

Atributos de cor são de primordial importância, pois influenciam diretamente a aceitabilidade do consumidor. Os resultados da avaliação da cor dos filmes são mostrados na Tabela 1. Analisando a Tabela 1, percebe-se que ocorreu diferença estatística entre os

tratamentos para a coordenada L*. Pode-se observar também que não houve alteração significativa entre valores de L* nos biofilmes de quitosana quando houve variação de concentrações, enquanto que a adição de argila ao biofilme aumenta o valor da variável.

Tabela 1 variação de variáveis de cor L*, a* e b* dos filmes de quitosana e aditivos. Mossoró-RN, UFERSA, 2012.

Tratamentos	Cor		
	L*	a*	b*
Quitosana 1% sem argila	34,77 b	-3,23 a	1,00 c
Quitosana 2% sem argila	35,03 b	-3,40 a	3,60 bc
Quitosana 1% com argila	46,63 a	-4,23 a	6,30 ab
Quitosana 2% com argila	44,40 a	-4,07 a	8,37 a

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

O valor de b* aumentou significativamente com o aumento da concentração de quitosana e com a adição de argila. Para a coordenada b ocorreu diferença estatística a nível de 5% de probabilidade. O biofilme com 1% de quitosana apresentou valor 1 para coordenada b diferenciando estatisticamente dos biofilmes com 1 e 2% quitosana com argila que apresentaram valores de coordenada b* 6,3 e 8,37, não diferenciando do biofilme com 2% de quitosana que apresentou valor de 3,6 para a coordenada b. O biofilmes com 1% de quitosana com adição de argila diferiu dos biofilmes com 1 e 2% de quitosana sem argila, não diferindo do biofilme com 1% de quitosana com argila, e o biofilme com 1% de quitosana com argila não diferiu do biofilme com 2% de quitosana sem argila.

Estes resultados sugerem um aumento líquido de cor amarelo-castanho, devido à incorporação de argila a 50% (w/w) de massa (RAO et al., 2010), como também ao aumento de quantidade de quitosana que possui coloração característica amarelada. Segundo Casariego et al., (2009) o valor de b* é o parâmetro que descreve a cor dos filmes a base de quitosana, devido à cor amarelada natural da quitosana, e é a coordenada cromática que influencia a diferença total da cor. Para concentração de 1% de

quitosana, os biofilmes de Casariego et al., (2009) obtiveram valor da coordenada b* de 9,66 e para a concentração de 2% cerca de 12,76. O ácido láctico utilizado na preparação dos biofilmes de Casariego et al., (2009), assim como o tipo de partículas usadas juntamente na composição podem ter influenciado na diferença desta coordenada para os filmes. Os tratamentos não diferenciaram estatisticamente para a coordenada a* apresentando valores no intervalo de -3,23 a -4,07. Valores negativos de a* sugerem que os filmes possuem um tom esverdeado.

Rao et al., (2010) obtiveram valores superiores de L* para filmes de quitosana com adição de goma de guar e valores próximos de a*, também observou os valores de b* aumentar com o aumento de concentração de quitosana e goma de guar.

A transparência de um filme é uma propriedade desejável, uma vez que o consumidor deseja ver claramente o aspecto do produto. A opacidade é uma medida estabelecida da transparência de um filme. Os resultados apresentados na Figura 2 mostram claramente que a presença de partículas de argila nos filmes de quitosana afeta diretamente na opacidade.

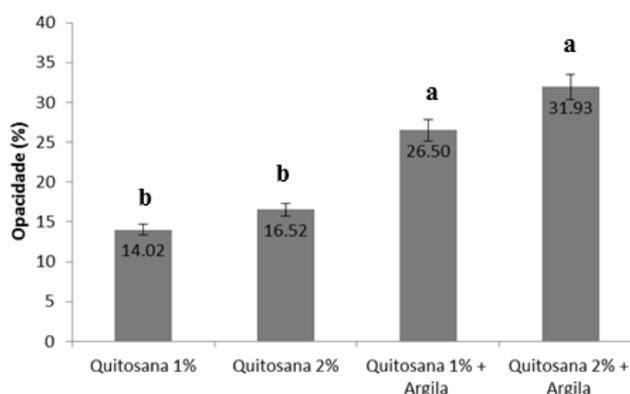


Figura 2. Gráfico de opacidade dos filmes de quitosana com e sem adição de argila. Mossoró-RN, UFERSA, 2012.

Rao et al., (2010) perceberam que aumentando a concentração do composto “guar gum” há uma considerável redução na transparência. Estes resultados

são importantes uma vez que a transparência ou opacidade do filme são propriedades consideráveis de aplicações, especialmente se o filme vai ser usado como um

revestimento de superfície de alimentos para melhorar a aparência do produto. Tavares (2010), observou que a opacidade de todos os filmes de zeína com adição de argila foi maior quando comparada com o polietileno. Pequenas diferenças na espessura entre as amostras e a

quantidade de argila adicionada não foram relevantes para influenciar a opacidade entre os tratamentos. Wolf (2007) verificou que a adição de fibras em seus filmes de colágeno afetou diretamente a opacidade.

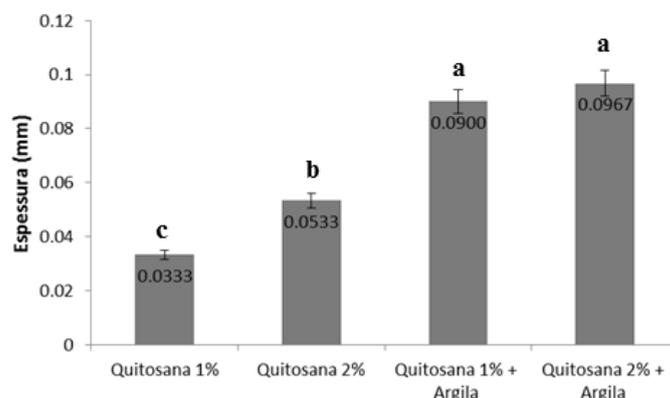


Figura 3. Gráfico de variação de espessura dos filmes de quitosana com e sem adição de argila. Mossoró-RN, UFRSA, 2012.

A espessura dos biofilmes deve ser a mais homogênea possível para evitar problemas mecânicos e de conservação. Ela deve ser estabelecida levando-se em conta a utilização final do filme, que vai depender do alimento a ser embalado (JIMÉNEZ et al., 2012).

Na figura 3 pode ver-se que as espessuras das películas variaram 0,0333-0,0967 mm. Os valores se aproximam a filmes de polietileno comercial de aproximadamente 0,050 mm. O aumento da concentração de quitosana provoca um aumento na espessura da película. Pode ser observado um aumento da espessura

com o aumento da concentração de quitosana, que ocorre devido o aumento de matéria seca depositada. Mas, quando houve adição de argila não houve nenhum aumento significativo na espessura. Tavares et al., (2010) mostra espessuras de 0,190-0,230 mm para filmes de zeína com aditivos de argila, onde eles são comparados com uma película de polietileno de 0,050 mm. Segundo Wolf (2007), deve-se levar em consideração a quantidade de massa seca de cada solução filmogênica para controlar a espessura dos filmes.

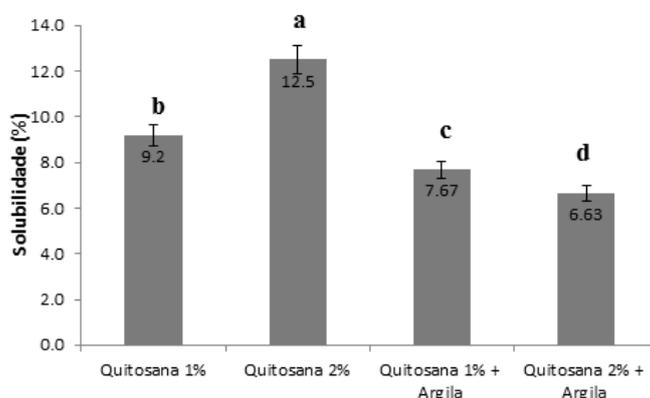


Figura 4. Gráfico de variação da solubilidade dos filmes de quitosana com e sem adição de argila. Mossoró-RN, UFRSA, 2012.

Na Figura 4 percebe-se que os filmes somente com quitosana tiveram sua solubilidade aumentada quando suas concentrações foram maiores, enquanto que a adição de argila contribuiu para a diminuição da solubilidade dos filmes. Casariego et al., (2009) também observou que a solubilidade do filme decresce com a adição de quitosana. Tavares (2010) observou o

decréscimo da solubilidade com a adição de argilas específicas, onde os resultados apresentaram valores sutis.

A permeabilidade ao vapor de água pode ser observada através da Figura 5, onde observa-se que paralelo ao aumento da concentração da quitosana há o aumento da permeabilidade ao vapor de água devido ao caráter hidrofílico da quitosana, fazendo com que os biofilmes não apresentem uma boa barreira à umidade.

Polímeros hidrofílicos contêm grupos polares que permitem a formação de pontes de hidrogênio, absorvendo água do ambiente; assim a presença de vapor d'água na matriz polimérica altera a permeação de gases, onde uma alta sorção de água, provoca maior taxa de permeação, uma vez que a molécula de água atua como plastificante na matriz filmogênica e aumenta o volume livre do polímero (KIM & USTUNOL, 2001).

Entretanto, quando se adiciona a argila à quitosana há certo aumento na permeabilidade ao vapor de água, contrariando alguns estudos já existentes. A permeabilidade ao vapor de água não apresenta mudança

significativa quando se aumenta ao mesmo tempo as concentrações de quitosana e argila. Pavlidou e Papispyrides (2008), o acréscimo de argilas na elaboração de filmes promove melhorias nas propriedades de barreiras, as quais podem ser explicadas pelo conceito do caminho tortuoso, onde pela quantidade de matéria de argila há uma dificuldade de passagem de moléculas de água. Assim, quando nanopartículas impermeáveis são incorporadas em um polímero outras partículas ou substâncias são forçadas a passar feito um “zigue-zague”; por isso, devido à dificuldade em atravessar o filme, há uma redução da difusão de líquido e gases.

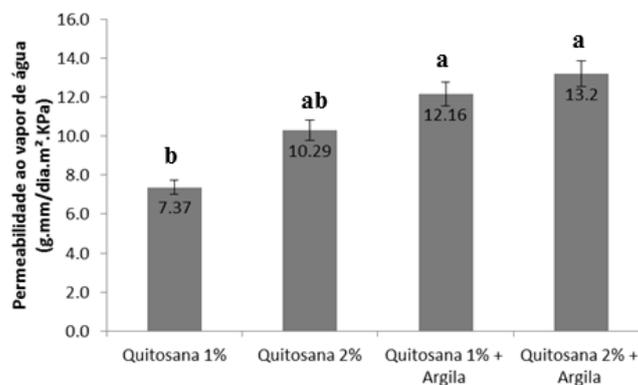


Figura 5. Gráfico de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de quitosana com e sem adição de argila. Mossoró-RN, UFERSA, 2012.

Segundo Wolf (2007), a permeabilidade ao vapor de água depende de vários fatores externos como temperatura, umidade relativa e pressão e do tipo de material usado na confecção do filme. Segundo Lai e Padua (1998), a temperatura também afeta a permeabilidade ao vapor sendo menor a 25°C do que a 5, 15 ou 35°C.

Nos filmes de quitosana de concentração de 1% estudado por Wong et al. (1992) os valores foram 3,1 g.mm/dia.m².kPa, inferiores aos encontrados aqui, enquanto que Suyatma et al. (2004) obtiveram valores de 15,6 g.mm/dia.m².kPa, mais próximos aos valores encontrados.

CONCLUSÕES

De acordo com os dados obtidos pode-se perceber que a luminosidade (L^*) foi alterada com a adição de argila aos filmes de quitosana, que não diferiram estatisticamente em relação a coordenada a^* . O valor de b^* aumentou significativamente com o aumento da concentração de quitosana e com a adição de argila. A opacidade só foi afetada quando adicionou-se argila ao biofilme. As espessuras aumentaram com a maior quantidade de matéria depositada. E a adição de argila não ajudou na barreira ao vapor de água, como pode-se observar com o aumento dos valores de permeabilidade ao vapor de água.

REFERÊNCIAS

- ASSIS, O. B. G.; ALVES, H. C. Metodologia Mínima para a Produção de Filmes Comestíveis de Quitosana e Avaliação Preliminar de seu Uso como Revestimento Protetor em Maças Cortadas. **Comunicado técnico 49**. ISSN 1517-4786, São Carlos, SP, 2002.
- BUTLER, B. L., VERGANO, P. J., TESTIN, R. F., BUNN, J. M., & WILES, J. L. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. **Journal of Food Science**, 61, 953–955, 961. 1996.
- CARVALHO, R. A. **Desenvolvimento e caracterização de filmes à base de gelatina**. f 143, Dissertação (Mestrado em engenharia de alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP. 1997.
- CASARIEGO, A.; SOUSA, B. W. S.; CERQUEIRA, M. A.; TEIXEIRA, J. A.; CRUS, L.; DÍAZ, R.; VICENTE, A. A.; Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1895-1902, 2009.
- DOTTO, G. L., GRENVIELI, A. C.; Oliveira, A.; PONS, G.; PINTO, L. A. A.; Uso de Quitosana Como Filme Microbiológico Para o Aumento da Vida Útil de Mamões Papaia. **Conhecimentos sem fronteira – XVII CIC**, UFRS, 2008.

- DUTTA, P. K., TRIPATHI, S., MEHROTRA, G. K., & DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, 114, 1173–1182. 2009.
- GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; HANNA, M.A.; FRONING, G.W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n.3, p.585-589, 1996.
- HUNTER ASSOCIATES LABORATORY (Reston, Estados Unidos). **Universal software versions 3.2 and above**: User's manual: manual version 1.5. Reston, 1997.
- JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. **Food Bioprocess Technology**. V.4, p.0-0, 2012.
- KIM, S.-J.; USTUNOL, Z. Solubility and moisture sorption isotherms of wheyprotein- based edible films as influenced by lipid and plasticizer incorporation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n.9, p. 4388-4391, 2001 b.
- KUNTE, L.A.; GENNADIOS, A.; CUPPETT, S.L.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L. Cast films from soy protein isolates and fractions. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.74, n.2, p.115-118, 1997.
- LAI H-M; PADUA GW. Water vapor barrier properties of zein films plasticized with oleic acid. **Cereal Chemistry**, v. 75, n. 2, p. 194-199, 1998.
- LAVORGNA, M.; PISCITELLI, F.; MANGIACAPRA, P.; BUONOCORE, G.G. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 291-298, Itália, 2010.
- LECETA I, GUERRERO P., DE LA CABA K.. Functional properties of chitosan-based films. **Carbohydrate Polymers**, vol 93, pag 339– 346. 2013.
- LI J., ZIVANOVIC S., DAVIDSON P.M., KIT K.. Characterization and comparison of chitosan/PVP and chitosan/PEO blend films. **Carbohydrate Polymers**, vol 79, pg 786–791, 2010.
- PAIVA, L.B.; MORALES, A.R.; DÍAZ, F.R. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. **Cerâmica**, v. 54, n. 330, p. 213-226, 2008.
- PAVLIDOU, S.; PAPASPYRIDES, C.D. A review on polymer-layered silicate nanocomposites. **Progress in Polymer Science**, v. 33, n. 12, p. 1119-1198, 2008.
- RAO, M.S.; KANATT, S.R.; CHAWLA, S.P.; SHARMA A. Chitosan and guar gum composite films: Preparation, physical, mechanical and antimicrobial properties. **Carbohydrate Polymers**, Article in press. 2010.
- RAO, M.S.; KANATT, S.R.; CHAWLA, S.P.; SHARMA A. Chitosan and guar gum composite films: Preparation, physical, mechanical and antimicrobial properties. **Carbohydrate Polymers**, Article in press, 2010.
- SANTOS, J. E.; SOARES, J. P.; DOCKAL, E. R.; CAMPANA FILHO, S. P.; CAVALHEIRO, E. T. G.; Caracterização de Quitosanas Comerciais de Diferentes Origens. Artigo técnico, **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 13, nº 4, p. 242-249, 2003.
- SANTOS, Z. M.; CARONI, A. L. P. F.; PEREIRA, M. R.; SILVA, D. R.; FONSECA, J. L. C. Determination of deacetylation degree of chitosan: a comparison between conductometric titration and CHN elemental analysis. **Carbohydrate Research** 344, Rio Grande do Norte, p. 2591-2595, 2009.
- SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 2, p. 84-95, 2007.
- SOZER, N.; KOKINI, J.L. Review: Nanotechnology and its applications in the food sector. **Trends in Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 82-89, 2009.
- SUYATMA, N.E.; COPINET, A.; TIGHZERT, L.; COMA, V. Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan and poly (lactic acid) blends. **Journal of Polymers and the Environment**, vol.12, nº 1, Jan/2004.
- TANADA-PALMU, P., FAKHOURI F. M, GROSSO C. R. F. Filmes biodegradáveis: extensão da vida útil de frutas tropicais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, 26, 12. 2002.
- TAVARES, L. L. **Efeito da adição de argilas modificadas na estrutura e propriedades funcionais de biofilmes produzidos a base de zeína**. 2010. 75 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. São José do Rio Preto – SP.
- WOLF, K.L. **Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno**. 101f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2007.
- WONG, D.W.S.; GASTINEAU, F.A.; GREGORSKI, S.S.; TILLIN, S.J.; PAVLAJH, A.E. Chitosan- lipid films: microstructure and surface energy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v. 40, p. 540- 544,1992.